Aus der Universitäts-Frauenklinik zu Frankfurt am Main
(Direktor: Prof. Dr. Dr. H. Guthmann)

Experimentelle Untersuchungen über die luteinisierende Wirkung von synthetischen Stoffen der Stilboestrolreihe in Verbindung mit Prolan

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin der hohen Medizinischen Fakultät
der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

Vorgelegt von
ERWIN GREIN
aus Kelsterbach am Main

DEZEMBER 1939

Aus der Universitäts-Frauenklinik zu Frankfurt am Main
(Direktor: Prof. Dr. Dr. H. Guthmann)

Experimentelle Untersuchungen über die luteinisierende Wirkung von synthetischen Stoffen der Stilboestrolreihe in Verbindung mit Prolan

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin der hohen Medizinischen Fakultät
der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

Vorgelegt von
ERWIN GREIN
aus Kelsterbach am Main

DEZEMBER 1939

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität zu Frankfurt a. M.

Referent: Dozent Dr. F. Stähler

Korreferent: Prof. Dr. Dirscherl

Dekan: Prof. Dr. V. Schmieden

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

MEINER LIEBEN
MUTTER

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551901_0108

Die vorliegenden Untersuchungen befassen sich mit der Frage, ob das Stilboestrolpropionat „Cyren B" imstande ist, die Prolanwirkung an den Ovarien infantiler Ratten zu beeinflussen. Weiterhin wurde das Verhalten der Hypophyse in diesen Versuchen studiert.

Die Anregung zu dieser Arbeit gaben bisher unveröffentlichte Experimente von Huf im Forschungslaboratorium Elberfeld der I. G. Farbenindustrie. Im Einverständnis mit Huf wurde, aufbauend auf seine Befunde, der Fragenkomplex um die Aktivierung der Prolanwirkung durch Cyren eingehend experimentell überprüft. Huf hatte gefunden, daß durch eine Vorbehandlung mit Cyren B eine auffällige, ins Groteske gesteigerte Luteinisierung der Ovarien infantiler Ratten eintritt.

Bevor ich auf das eigentliche Thema eingehe, möchte ich kurz die biologischen Wirkungen des gonadotropen Hormons sowie des Follikelhormons und der synthetischen Stilben-Präparate anführen.

Der Vorderlappen der Hypophyse enthält ein oder zwei Hormone, deren physiologische und pathologische Bedeutung besser erforscht sind, als bei den anderen Hypophyseninkreten. Es sind dies die gonadotropen oder auch die sogenannten übergeordneten Geschlechtshormone, die 1925 zuerst von Zondek und Smith beschrieben wurden. Beide fanden unabhängig voneinander, daß nach Implantation von Hypophysenvorderlappengewebe verschiedenartige Wirkungen am infantilen Tier (Maus und Ratte) ausgelöst wurden:

1. Die Tiere wurden in die Brunst gebracht mit den charakteristischen Erscheinungen am Uterus und an der Vagina, daneben wurden

2. an den Ovarien der Maus jene eigenartigen blauschwarzen Körper ausgelöst (als Blutpunkte bezeichnet) und außerdem wurde

3. die Bildung von Corpora lutea angeregt.

Das histologische Bild dieser Ovarien zeigt folgende Besonderheiten: Das ganze Ovarium ist hyperämisch, die Follikel sind vergrößert, vielfach enthalten sie Massenblutungen (Blutpunkte). Die Thekazellen sind gewuchert, die Ovarien enthalten Corpora lutea, zum Teil mit eingeschlossenem Ei.

Zondek und Aschheim bewiesen auch anhand einer großen Anzahl von Kontrollversuchen, daß die am infantilen Tier ausgelöste sexuelle Frühreife eine spezifische Wirkung des Hypophysenvorderlappens ist. Diese Wirkung kommt zustande durch eine spezifische Anregung der

generativen und inkretorischen Tätigkeit der Keimdrüsen, die ihrerseits dann sekundär die trophischen Veränderungen der Genitalorgane auslösen. Die Wirkung der gonadotropen Hormone des HVL bleibt also beim kastrierten Tier aus, da sie streng an das Vorhandensein ansprechbarer Keimdrüsen gebunden ist.

Zondek konnte ebenfalls anhand zahlreicher Versuche beweisen, daß die oben beschriebenen Wirkungen nicht durch ein, sondern durch zwei verschiedene Hormone des HVL hervorgerufen werden, nämlich durch das Follikelreifungshormon (Prolan A) und das Luteinisierungshormon (Prolan B). Die größte Zahl der Autoren spricht sich heute für die Dualität des Prolans aus. Das in meinen Versuchen verwandte Prolan der I. G. Farbenindustrie enthält sowohl den Follikelreifungsfaktor als auch den luteinisierenden Faktor.

Ueber den biologischen Effekt des Follikelhormons ist folgendes zu sagen: Follikulin wirkt an der Ratte brunstauslösend und schleimhautproliferierend und regt das Uteruswachstum und die Brustdrüsenentwicklung an. Die Brunst, die durch das Schollenstadium des Vaginalabstriches nachgewiesen werden kann (Allen — Doisy — Test) ist auch beim kastrierten Tier durch Follikelhormongaben auszulösen. Im Gegensatz dazu steht die brunstauslösende Wirkung des HVL-Hormons. Prolan wirkt am kastrierten Tier nicht, dagegen aber das Follikulin.

Fast alle biologischen Wirkungen, die man von dem echten Sexualhormon kennt, konnten auch mit synthetischen Körpern von ganz anderer chemischer Konstitution erzielt werden. Nach Untersuchungen von Dodds und Robinson haben relativ einfache chemische Zweiringkörper biologische Eigenschaften gezeigt, welche qualitativ und quantitativ den Wirkungen des weiblichen Sexualhormons glichen. Dodds bezeichnete diesen Körper als „Diäthyl-Stilböstrol". Sie sollen mit dem von dänischen Forschern zuerst gefundenen „Diäthyldioxystilben" identisch sein. Die leicht zugänglichen Körper sind in Deutschland von der I. G. Farbenindustrie in 3 Formen hergestellt worden und zwar als Diäthyldioxy — Stilben = „Cyren A", als Diäthyloxystilben — Dipropionat = „Cyren B" und als Diäthyldioxystilben-Diacetat = „Cyren C".

Rückwirkung der Keimdrüse auf die Hypophyse

Zondek brachte seinerzeit ein Schema über die Stellung des Hypophysenvorderlappens im Sexualgeschehen. Der HVL ist der Motor der Sexualfunktion, er ist die übergeordnete Sexualdrüse. Ohne Vorderlappen kein Follikulin, kein Progestin.

Der genadotrope Faktor des HVL ist das Primäre, die Sexualhormone das Sekundäre. Doch damit scheinen die Beziehungen zwischen

Vorderlappen und Keimdrüsen nicht erschöpft zu sein. Wir wissen heute, daß nicht nur der HVL auf das Ovar stimmulierend wirkt, sondern daß das Ovar auch umgekehrt auf die Hypophyse wirkt und zwar mit Hilfe des im Ovar produzierten Follikelhormons.

Moore und Price stellen die Theorie der Rückwirkung der Keimdrüsen auf die Hypophyse auf. Danach wirken alle Keimdrüsenhormone (männliche wie weibliche) über die Hypophyse auf die eigene Gonade. Die durch Follikelhormon zu erzeugende Hodenatrophie oder die Ovaratrophie sollen nach Bericht beider Autoren Ausdruck eines und desselben Vorganges, nämlich der Hemmung der Funktion der gonadotropen Hormone der Hypophyse sein. In Uebereinstimmung damit steht die Erscheinung, daß man die Keimdrüsenatrophie verhüten oder rückgängig machen kann durch gleichzeitige oder nachfolgende Injektion des gonadotropen Hormons des HVL (Implantation oder Injektion von Extrakten (Moore u. Price).

Die Ansicht von der Rückwirkung des Ovars auf den HVL ist heute namentlich für die Theorien über den Mechanismus des geschlechtlichen Zyklus von Bedeutung geworden.

Wir kennen zwei Theorien, die den Rhythmus des Zyklus erklären wollen und die beide davon ausgehen, daß das Follikelhormon einen regulierenden Einfluß auf den Hypophysen-Vorderlappen besitzt. Nach der ersten Ansicht von Engle soll das Follikelhormon eine Ausschwemmung des in der Hypophyse aufgestapelten gonadotropen Hormons herbeiführen. Nach der zweiten Theorie wird von Leonard und Hisaw sowie von Moore und Price die Ansicht vertreten, daß das Follikelhormon die Funktion des gonadotropen Hormons hemmt. Beide Anschauungen stimmen in der Vermutung überein, daß eine rhythmische Aenderung in der Produktion von Follikelhormon die Ursache des Zyklus ist. Gegen beide Erklärungsmöglichkeiten wurden eine Reihe von Beweisen angeführt, die jedoch durch widersprechende Versuchsergebnisse getrübt waren.

Erst in neuerer Zeit hat man erkannt, daß wir zwei völlig entgegengesetzte Wirkungen des Follikelhormons auf die Hypophyse zu unterscheiden haben und zwar

1. eine stimulierende Wirkung auf die Hypophyse und
2. eine hemmende Wirkung auf die Hypophysenfunktion.

Wahrscheinlich wird der geschlechtliche Zyklus durch das Ineinandergreifen dieser beiden Reaktionen bedingt.

Stimulierung des HVL durch das Ovarium

Steinach, Heinlein und Wiesner haben gezeigt, daß man durch Follikulin die ruhende Sexualfunktion des senilen Tieres nicht nur in Gang bringen, sondern auch in Gang erhalten kann. Da wir wissen,

daß das Follikulin auf das Ovarium selbst nicht einwirkt, kann der Versuch nur so gedeutet werden, daß das Follikelhormon eine stimulierende Wirkung auf den Vorderlappen des senilen Tieres ausübt. Sie soll nach Magath auch nachweisbar sein bei Behandlung von infantilen Tieren mit Follikelhormon plus Prolan in unterschwelligen Dosen.

Magath und Rosenfeld, die diese Versuche an infantilen Mäusen und Ratten anstellten, gingen dabei nach folgendem Schema vor:

Im Laufe von 3 Tagen zweimal täglich Follikulin-Injektionen; an den folgenden zwei Tagen neben der fortlaufenden Follikulinzufuhr Verabreichung der unterschwelligen Prolandosis (½ RE Prolan auf 6 Injektionen verteilt). Weitere zwei Tage wieder Follikulin allein. Sektion am 8. Versuchstage. Die Kontrolltiere bekamen lediglich am 4. und 5. Versuchstag eine halbe RE Prolan. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt:

Tabelle 1

Nr.	Versuchs-Tiere	Prolan allein Corp. lut. (HVR III positiv) bei	Prol. + Foll. Corp. lut. (HVR III positiv) bei	Follikulin Dosen
1	Inf. Mäuse	3 Tieren aus 10	allen 7 Tieren	12 ME täg.
2	„ „	1 „ „ 7	allen 7 Tieren	50 ME „
3	„ „	3 „ „ 9	allen 9 Tieren	70 ME „
4	Inf. Ratten	1 „ „ 10	5 Tieren aus 10	100 RE „

Wie bereits oben angeführt wurde, hat eine chronische Behandlung mit Follikelhormon eine Sterilität (Atrophie des Ovars) zur Folge. Akute einmalige Zufuhr einer großen Follikelhormondosis dagegen führt nur zu einer zeitlich begrenzten Sterilität. Dann kommt es zu einer reaktiven hormonalen Expansion des HVL. Die Folgen des Wegfalls der Hemmung ist ein akutes Mehrangebot von gonadotropem Hormon und damit eine akute Wirkung am Ovar. Nach Klaften scheint es sich besonders um eine Mehrsekretion des Luteinisierungshormons des HVL zu handeln, da eine einmalige große Dosis Follikelhormon oder kurzdauernde tägliche Behandlung (12 Tage je 200 RE Prolan täglich bei erwachsenen Ratten) zur starken Bildung von Corpora lutea führt.

In dieselbe Richtung weisen auch die Befunde von Hohlweg, der bei juvenilen Ratten (35—50 gr schwer) durch große Follikulindosen (12500 ME Progynon-Benzoat) Corpus luteum-Bildung auslösen konnte.

Die Hypophysen der Versuchstiere zeigten eine enorme Vergrößerung mit starken Veränderungen der Hauptzellen, deren Kerne äußerst chromatinarm sind und auffallend viel Mitosen haben. Im Implantationsversuch erwiesen sich diese Hypophysen als prolanarm. Während man durch Implantation von 2 Hypophysen von normalen Weibchen die HVR I, d. h. den Oestrus auslösen kann, ergab die Implantation von 5 Hypophysen der mit großen Follikulindosen behandelten Tiere ein negatives Ergebnis. Trotzdem durch die hohen Follikulindosen auf dem Wege über die Hypophyse die Luteinisierung also eine erhöhte gonadotrope Sekretion des juvenilen Hypophysenvorderlappens erzielt wurde, war der Vorderlappen selbst prolanfrei. B. Zondek hebt diesen Befund besonders hervor mit Rücksicht auf die negativen Hormonbefunde bei der Graviditätshypophyse. Er will damit hervorheben, daß man also aus dem niedrigen Hormongehalt des Vorderlappens nicht schließen darf, daß er an der Hormonproduktion unbeteiligt ist.

Hohlweg macht in seiner Arbeit darauf aufmerksam, daß die Versuche nur an juvenilen Ratten positiv ausfallen; das Tier müsse am Ende des Versuches mindestens 40 gr schwer sein. Bei Tieren, die noch weit von der Pubertät entfernt sind, konnte, wie auch eigene Versuche zeigten, weder Corpora lutea-Bildung noch Vergrößerung der Ovarien festgestellt werden. Wahrscheinlich liegt auch in dieser Tatsache der Mißerfolg, den Bachmann und auch Zondek bei Nachprüfung der Ergebnisse von Hohlweg sahen.

An dieser Stelle möchte ich einen Teil meiner Untersuchungen einschalten, die sich mit der Frage befassen, inwieweit die Kombination von Cyren B mit Prolan die Prolanwirkung zu steigern vermag. Die Versuche, die an juvenilen und infantilen weiblichen Ratten durchgeführt wurden. sind, wie eingangs erwähnt, in Anlehnung an eine Arbeit von Huf aus dem Beyer-Forschungs-Laboratorium Elberfeld aufgebaut wurden.

Als Test der Wirksamkeit wurde die Summe der nach Verabfolgung des jeweiligen Präparates erzielten Ovargewichte, sowie die Bildung von Corpora lutea genommen.

In der ersten Versuchsreihe wurde nach folgendem Schema vorgegangen:

Die Tiere wurden 7 Tage lang durch tägliche Injektionen (subkutan) von 1 mg Cyren B (in 0,5 ccm Sesam-Oel gelöst) vorbehandelt. Vom 8. bis 10. Versuchstag erhielten sie 1024 RE bezw. 32 RE Prolan (injiziert nach der üblichen Methode in 6 Dosen innerhalb 3 Tagen), danach 3 Tage lang Abstriche. Sektion am 14. Versuchstag. Die Kontrolltiere bekamen lediglich vom 8.—10. Tag 1024 RE bezw. 32 RE Prolan. Am ersten bis siebten Tag wurde anstelle des Cyrens nur das Lösungsmittel, nämlich täglich 0,5 ccm Sesamöl, injiziert.

Zuerst sei in Tabelle 2 das Verhalten des Scheidensekretes während des Versuches an einem Beispiel wiedergegeben:

Tabelle 2

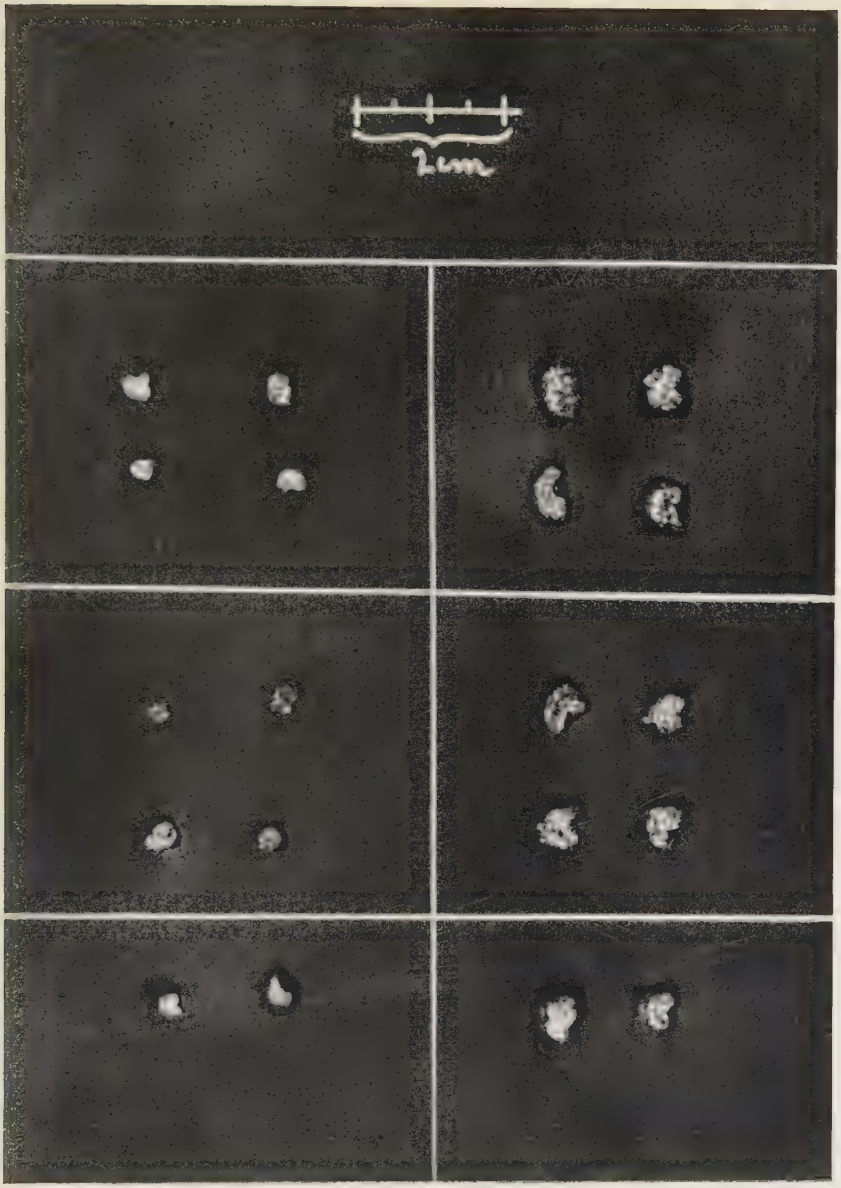
Datum	Leuko	Epith.	Schleim	Schollen	Bemerkungen
13. 11.	++	++	++	−−	1 mg Cyren B
14. 11.	++	++	++	−−	1 mg Cyren B
15. 11.	+	+	−−	++	1 mg Cyren B
16. 11.	−−	−−	−−	++++	1 mg Cyren B
17. 11.	−−	−−	−−	++++	1 mg Cyren B
18. 11.	−−	−−	−−	++++	1 mg Cyren B
19. 11.	−−	−−	−−	++++	1 mg Cyren B
20. 11.	−−	−−	−−	++++	$2 \times \frac{1024}{6}$ RE Prolan
21. 11.	+	+	++	+	$2 \times \frac{1024}{6}$ RE Prolan
22. 11.	++	++	++	−−	$2 \times \frac{1024}{6}$ RE Prolan
23. 11.	++	++	++	−−	
24. 11.	++	++	++	−−	
25. 11.	++	++	++	−−	

Die gefundenen Scheidenabstriche geben ein eindeutiges Bild. Die mit Cyren behandelten Tiere wurden sämtlich nach 2—3 Tagen brünstig. Sie zeigten alle im Abstrich das reine Schollenstadium. Mit der Dauerhormonisierung wurde ein dauerndes Schollenstadium erreicht. Diese positiven Vaginalabstriche wurden durch die Injektion von Prolan schlagartig negativ, während die nur mit Cyren behandelten Tiere weiterhin brünstig blieben. Das Sistieren der Brunst weist auf eine stattgefundene Luteinisierung hin. Bei den Kontrolltieren, die weder Cyren noch Prolan erhielten, konnte keine sexuelle Reife festgestellt werden.

Bei der Sektion fand ich starke Veränderungen an den Genitalorganen. Die voll entwickelten Genitalorgane machten den Eindruck, als ob sie in den kleinen infantilen Organismus gar nicht hinein paßten. Die uteri waren stark vergrößert, livide verfärbt und mit Sekret gefüllt. Die Ovarien, ebenfalls stark vergrößert, waren von dunkelroter Farbe, die Oberfläche von blauschwarzen Blutpunkten überragt und diese wiederum von gelben Körpern umsäumt.

In Abbildung 1 sind die Ovarien der verschiedenen Versuche nebeneinander dargestellt.

Abb. 1



Prolan allein | Cyren + Prolan

Nun wurden die Ovarien herausgenommen, sauber präpariert und das Gewicht festgestellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 und 4 wiedergegeben:

Tabelle 3

7,0 mg Cyren B + 1024 RE Prolan			7,0 mg Cyren B + 32 RE Prolan		
Tier-Nr.	Ovargew. mg	Tiergew. g	Tier-Nr.	Ovargew. mg	Tiergew. g
1	208	58	9	165	55
2	240	62	10	eingegangen am 19. 11.	
3	210	51	11	182	60
4	227	56	12	162	55
5	236	63	13	165	57
6	206	54	14	158	55
7	210	51	15	171	61
8	208	55	16	168	56
Durchschnitts-gewicht	218,10	56,25		167,3	57

Tabelle 4

1024 RE Prolan			32 RE Prolan		
17	56	53	23	34	57
18	60	58	24	30	52
19	59	61	25	31	53
20	50	57	26	33	54
21	58	59	27	35	59
22	58	56	28	33	58
Durchschnitts-gewicht	56,8	57,4		32,7	55,6

Die am 19. 11. eingegangene Ratte Nr. 10 hatte 6 Tage lang täglich 1 mg Cyren B erhalten. Das histologische Bild der Ovarien zeigte vereinzelte Corpora lutea-Bildung.

Den Gewichtsanstieg der Ovarien nach Vorbehandlung von Cyren B soll Tabelle 5 veranschaulichen.

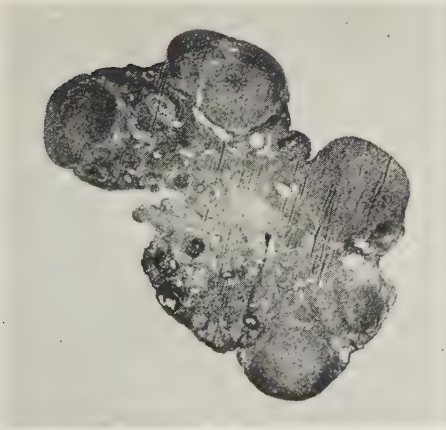
Tabelle 5

	Gegeben:	
	32 RE Prolan	1024 RE Prolan
	Durchschnittl. Ovargewichte mg	
Prolan allein	32,70	56,80
Cyren + Prolan	167,30	218,10
Gewichtssteigerung	+ 411,6 %	+ 284 %

Wie schon aus Abb. 1, die die kleinsten und größten Ovarien dieser Versuche darstellen, zu ersehen ist, wurde durch die Kombination von Cyren B und Prolan eine deutliche Steigerung des Prolaneffektes erreicht. Es konnten Gewichtsanstiege bis zu 400 % erzielt werden.

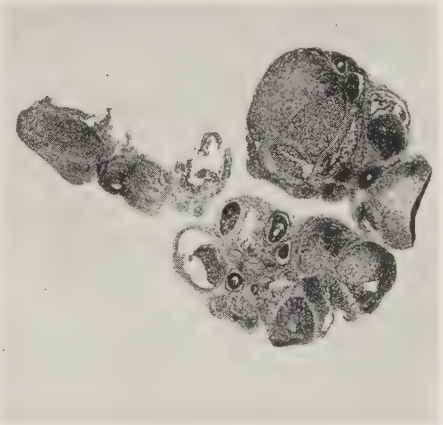
In Abbildungen 2—8 sind Fotografien der histologischen Schnittbilder wiedergegeben.

Abb. 2



Ovar von Ratte Nr. 18 (1024 RE Prolan)

Abb. 3

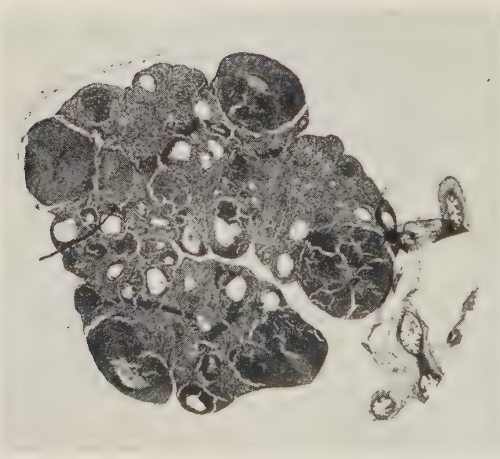


Ovar von Ratte Nr. 27 (32 RE Prolan)

Abb. 4

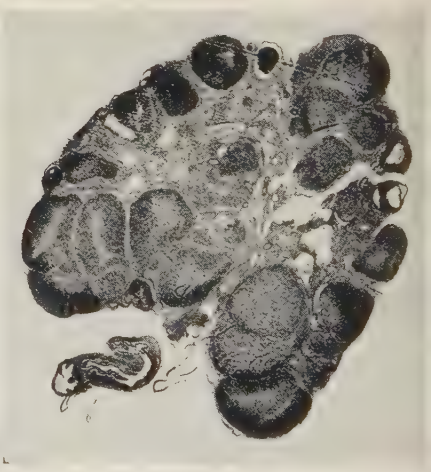
Ovar von Ratte Nr. 2 (7 mg Cyren B + 1024 RE Prolan)
Verg. 1:15

Abb. 5



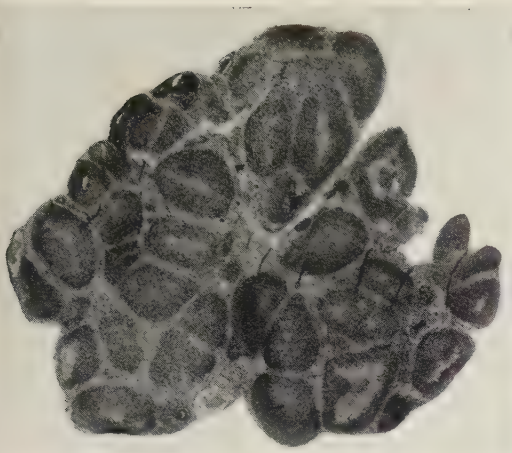
Ovar von Ratte Nr. 41 (0,07 mg Cyren B + 400 RE Prolan)

Abb. 6



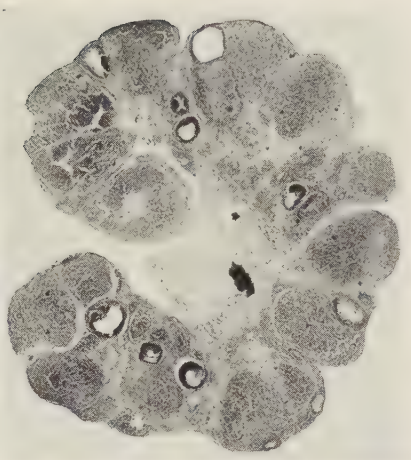
Ovar von Ratte Nr. 35 (0,7 mg Cyren B + 400 RE Prolan)

Abb. 7



Ovar von Ratte Nr. 45 (7,0 mg Cyren B per os + 1024 RE Prolan)

Abb. 8



Ovar von Ratte Nr. 55 (7 mg Oestradiolb. + 400 RE Prolan)

Sie zeigen ausgedehnte Corpora lutea-Bildung. Die vielen kleinen und mittelgroßen Corpora lutea erinnern sehr an die histologischen Bilder, die man nach Behandlung mit gonadotropem Hormon aus Stutenserum erhält. Diese Tatsache soll später noch einmal aufgegriffen werden. Nach Prolan allein finden sich in der Regel nur wenige große Corpora lutea. Die Luteinisierung nach Behandlung mit Cyren und Prolan ist so stark, daß, wie die Abbildungen zeigen, im ganzen Ovar kaum noch Follikel zu finden sind. Erst mit dem Heruntergehen der Cyrendosis (0,1 bezw. 0,01 mg Cyren B) konnte ich im histologischen Bild neben dem Corpora lutea auch zahlreiche große reife Follikel feststellen. Die Thekazellen treten deutlich an den Follikeln hervor, sie sind stark hyperämisch. Die Follikelhöhle ist zuweilen von Blutergüssen ausgefüllt (Blutpunkte). Die Corpora lutea zeigen zum Teil noch deutlich die Entstehung aus Granulosazellen, zum Teil sind die Luteinzellen auffallend groß, oft besteht noch eine Follikelhöhle. Ein Teil der Corpora lutea schließt das häufig degenerierte Ei ein.

Daß es sich bei den in den Abbildungen zu sehenden Corpora lutea nicht um Pseudo corpora lutea ohne endokrine Wirksamkeit handelt, läßt sich durch folgendes begründen:

1. Im histologischen Bild erkennt man die gute Durchblutung. Man sieht die Zellen des gelben Körpers häufig von einem Gefäßnetz umsponnen.

2. Im physiologischen Experiment ergibt sich, daß die infolge der Cyrenbehandlung positiven Vaginalabstriche (Schollenstadium — Oestrus) nach Prolan negativ werden, was auf Luteinisierung hinweist.

Untersuchungen mit kleinen Cyrendosen

In der ersten Versuchsreihe habe ich gezeigt, wie es möglich ist, mit großen Dosen von Cyren B den Prolaneffekt am Ovar juveniler weiblicher Ratten gewaltig zu steigern. Wenn ich hierbei Cyrendosen verwandte, die weit außerhalb der physiologischen Dosen gelegen sind, so nur deshalb, um die Auswirkung der Cyren-Prolan-Kombination deutlich verfolgen zu können. Die folgenden Versuchsergebnisse sollen zeigen, daß diese hohen Dosen gar nicht notwendig sind, wenngleich die Ovargewichtssteigerungen unter denen in Tabelle 5 wiedergegebenen zurückbleiben.

Walter Hohlweg gibt in seiner 1936 veröffentlichten Arbeit an, daß bei der Ratte bereits 4 Oestradiolbenzoat eine luteinisierende Wirkung auslösen können. Die Menge entspricht etwa 10 RE und da die Oestruseinheit, wie schon Marian nachgewiesen hat, nur ein Bruchteil der physiologischen Dosis ist, so kann man 10 RE ohne weiteres als für die Ratte physiologisch bezeichnen.

Tabellen 6—9 geben Ergebnisse wieder, die zeigen, daß auch kleinere Cyrendosen ausreichen, um eine stimulierende Wirkung auf den Hypophysen-Vorderlappen hervorzurufen.

Tabelle 6

0,7 mg Cyren B + 20 RE Prolan			0,7 mg Cyren B + 400 RE Prolan		
Tier-Nr.	Ovargew. mg	Tiergew. g	Tier-Nr.	Ovargew. mg	Tiergew. g
29	90,8	53	33	86,4	55
30	87,4	52	34	88,3	57
31	88,3	54	35	90,7	58
32	92,3	55	36	89,4	54
Durchschnittsgewicht	89,7	53,5		88,7	56

Tabelle 7

0,07 mg Cyren B + 20 RE Prolan			0,07 mg Cyren B + 400 RE Prolan		
Tier-Nr.	Ovargew. mg	Tiergew. g	Tier-Nr.	Ovargew. mg	Tiergew. g
37	63,6	49	41	71,8	50
38	68,3	52	42	68,9	51
39	64,7	50	43	70,7	49,5
40	65,4	50	44	71,0	52
Durchschnitts-gewicht	65,5	50,25		70,6	50,63

Vergleichen wir die oben erzielten Ovargewichte mit denen nach 20 RE bezw. 400 RE Prolaninjektionen allein erzielten, so ergibt sich folgendes Bild (Tab. 8 u. 9).

Tabelle 8

	Gegeben: 20 RE Prolan	400 RE Prolan
	durchschnittl. Ovargewichte mg	
Prolan allein	22,3	35,3
Prolan + Cyren	65,5	70,6
Gewichtssteigerung	+ 302,2 %	+ 151,3 %

Tabelle 9

Vorbehandlung: 0,01 mg Cyren B bezw. 0,2 ccm Sesamöl

	Gegeben: 20 RE Prolan	400 RE Prolan
	durchschnittl. Ovargewichte mg	
Prolan allein	20,3	27,2
Prolan + Cyren	65,5	70,6
Gewichtssteigerung	+ 222,6 %	+ 160 %

In jeder der Serien (Cyren Prolan und Sesamöl Prolan) befand sich auch eine Gruppe von Tieren, die anstelle des Prolan physiologische Kochsalzlösung erhielten. Die Tiere, die also nur mit Cyren behandelt waren, zeigten in den Ovarien eine bescheidene Gelbkörperbildung. Zu einer nennenswerten Ovargewichtssteigerung kam es bei ihnen nicht, wie man aus Tabelle 10 ersehen kann.

Tabelle 10

7,0 mg Cyren B allein		
Tier-Nr.	Ovargewichte mg	Tiergewichte g
53	32,5	56
54	31,5	58
Durchschnittsgewicht	32,0	57,0

Cyren B per os in Dosen von 0,1 bezw. 1,0 mg zeigte ebenfalls eine Steigerung der Prolanwirkung. Vergleicht man die in Tabelle 11 wiedergegebenen Ovargewichte mit denen nach gleichen Cyrendosen per injektionem erhaltenen, so ist nur ein geringer Wirkungsunterschied in der Gewichtssteigerung festzustellen. Das Uebersetzungsverhältnis von Cyren per os und Cyren per injektionem verhält sich wie 1:1,25.

Tabelle 11

7,0 mg Cyren per os + 1024 RE Prol.			0,7 mg Cyren per os + 400 RE Prol.		
Tier-Nr.	Ovargew. mg	Tiergew. g	Tier-Nr.	Ovargew. mg	Tiergew. g
45	178	56	49	71	54,5
46	154	57	50	73,5	55
47	183	55,5	51	68,9	52,5
48	194	58	52	75,7	53
Durchschnitts-gewicht	177,25	56,63		72,4	53,75

Um der Frage nachzugehen, ob bei den im Vorstehenden beschriebenen Kontrollversuchen Cyren B wie Follikelhormon oder in anderer Weise spezifisch gewirkt hat, wurden 2 Tiere auch mit Oestradiolbenzoat

vorbehandelt. Die Ratten erhielten 7 Tage lang täglich 1 mg Progynonbenzoat und anschließend 400 RE Prolan. Auch hier war eine Ovargewichtssteigerung von 225 % gegenüber den nach alleiniger Prolangabe erzielten Werten die Folge (Tab. 12). Man kann also sagen, daß Cyren B in den obigen Versuchen wie Follikelhormon gewirkt hat.

Tabelle 12

1,0 mg Oestradiolbenzoat + 400 RE Prolan		
Tier-Nr.	Ovargewichte mg	Tiergewichte g
55	116,8	50,5
56	110,6	52,5
Durchschnittsgewicht	113,7	51,5

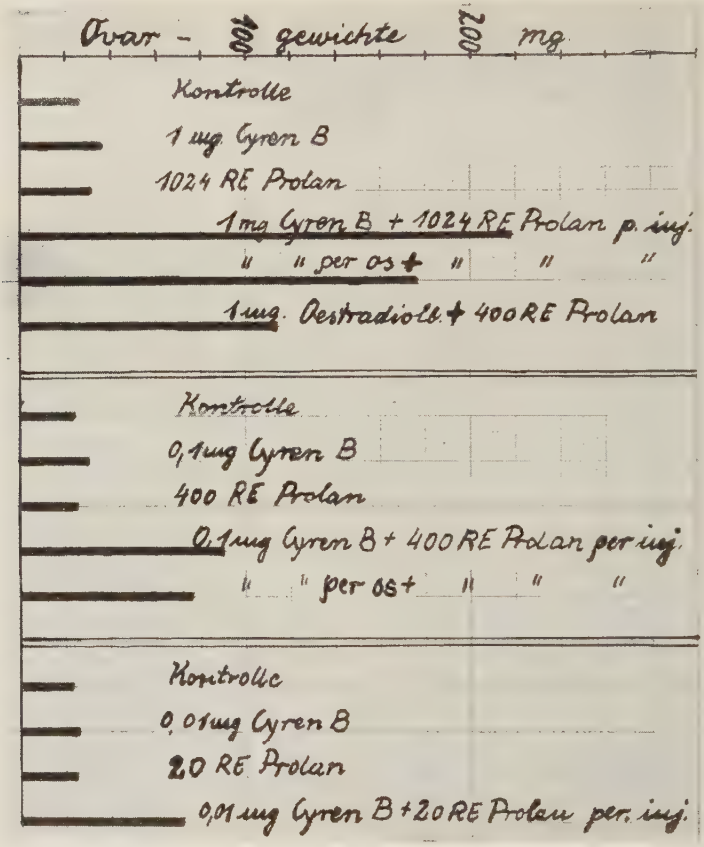
Abbildung 9 gibt zusammenfassend die erzielten Ovargewichte der einzelnen Versuche graphisch dargestellt wieder.

Zur Deutung der Ergebnisse war es notwendig, weitere Untersuchungen folgen zu lassen. Untersuchungsergebnisse von Fevold, Hisaw und Greep haben die wichtige Tatsache gezeigt, daß Follikelhormon bei hypophysektomierten Tieren keine Luteinisierung hervorruft. Man darf demnach annehmen, daß die in meinen Versuchen nachgewiesene Gelbkörperbildung nach alleinigen Cyrengaben durch eine stimulierende Wirkung des Cyrens auf den Hypophysenvorderlappen hervorgerufen wurde. Aus dieser Erkenntnis heraus untersuchte ich die Hypophyse der Versuchstiere auf Größenunterschiede und Strukturveränderungen.

Zuerst einige histologische anatomische Erläuterungen über die normale Rattenhypophyse. Sie besteht aus 3 morphologisch gut erkennbaren Teilen, nämlich den Vorderlappen, dem Hinterlappen und dem Zwischenlappen. Der Stiel ist makroskopisch kaum sichtbar. Im histologischen Bild des Vorderlappens sind zwei Arten von Zellen vorhanden, die chromophilen Zellen, die Farbstoff gut aufnehmen und die chromophoben Zellen, die schwach färbbar sind und auch Hauptzellen genannt werden. Unter dem chromophilen Zellen unterscheidet man weiter nach der Reaktion auf basische und saure Farbstoffe, die eosinophilen und basophilen Zellen. Bei der Ratte bestehen die eosinophilen Zellen aus kleinen und großen Zellen. In den kleinen tritt der Kern besonders deutlich hervor, umgeben von einem schmalen Saum von Protoplasma, das nur wenig granuliert erscheint. In den großen Zellen ist die Färbbarkeit geringer. Die basophilen Zellen treten mit tiefblau gefärbtem Granula auf, die in einem hellblauen Zytoplasma gelagert erscheinen. Daneben werden auch

Zellen beobachtet, die keine Granula enthalten, aber blaues Zytoplasma besitzen. Die Hauptzellen sieht man als Nuclei, umgeben von blaßblauem Zytoplasma, das in manchen Fällen ganz fehlen kann. Sie liegen in Klumpen zusammen oder zwischen den granulierten Zellen verteilt.

Abb. 9



Das histologische Bild der Hypophyse ist weitgehend abhängig vom Funktionszustand anderer innersekretorischer Drüsen, wie sich aus der Erscheinung ergibt, daß der Aufbau der Hypophyse während des normalen geschlechtlichen Zyklus stark wechselt und weiter aus der Erscheinung, daß während der Schwangerschaft oder nach der Kastration weitgehende Veränderungen der Hypophysenstruktur auftreten.

Im folgenden Abschnitt soll ein Einblick in diese Korrelation zwischen Hormonologie und Histologie des Hypophysenvorderlappens gegeben werden.

Cleveland und Wolfe haben die histologischen Hypophysenveränderungen während des normalen Zyklus beschrieben und sie zur Hormonproduktion in Beziehung gebracht. Beim Hund und Schwein vermindern sich die eosinophilen Zellen in der Luteinphase des Zyklus, während die Hauptzellen vermehrt sind. Gleichzeitig gehen innerhalb der Zellen nachweisbare Veränderungen vor sich. Die eosinophilen Zellen sind stark mit Granula gefüllt, die intensiv färbbar sind. Bei der Ratte kann man während der Gravidität eine starke Abnahme der eosinophilen Zellen feststellen. Während des Oestrus überwiegen beim gleichen Tier im Vorderlappen die basophilen, während des Dioestrus die eosinophilen Zellen.

Die grundlegenden Arbeiten über die Kastrationshypophyse von Fichera haben ergeben, daß nach der Operation ganz augenfällige Veränderungen der Zellelemente des Vorderlappens eintreten. Die Kastrationsveränderungen der Hypophyse sind charakterisiert durch die Zunahme der eosinophilen Zellen auf Kosten der basophilen, sowie durch das Auftreten einer normaler Weise nicht vorhandenen, neuen Zellart, den sogenannten Kastrationszellen. Daß diese Veränderungen durch den Ausfall der Sexualhormone entstanden sind, läßt sich daraus beweisen, daß man sie mit Follikelhormon verhüten oder rückgängig machen kann. Durch Wegfallen der hemmenden Wirkung des Follikelhormons setzt nach der Kastration eine Ueberproduktion von Prolan ein, wobei es im wesentlichen zu einer erhöhten Ausscheidung von Follikelreifungshormon (Prolan A) kommen soll (Evans, Kallas).

Auch in der Schwangerschaft finden wir eine erhöhte Prolanproduktion sowie Massenausscheidung im Harn. Welcher Art sind nun die Strukturbilder des Hypophysenvorderlappens? Die Graviditätshypophyse ist charakterisiert durch eine Volumen- und Gewichtszunahme des Vorderlappens mit Vermehrung der Hauptzellen und Umwandlung derselben in die sogenannten Schwangerschaftszellen (Erdheim u. Stumme). Die eosinophilen und basophilen Zellen sind vermindert. Wenn man einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Zellproliferation und Hormonproduktion annehmen will, so müßte man die Hauptzellen als Produzenten ansprechen. Da die basophilen Zellen aus den Hauptzellen hervorgehen, sagt Zondek, man könne im Verein mit Versuchen von Evans und Simpson die Zellgruppe Basophil-Hauptzellen als Prolanproduzenten ansehen. Doch die oben bei der Kastrationshypophyse beschriebenen histologischen wie hormologischen Befunde stehen mit dieser Annahme im Widerspruch. Dort müßte man nämlich die vermehrten eosinophilen Zellen für die Hormonproduktion verantwortlich machen. Wie vorsichtig und kritisch man bei der Beurteilung solcher Zellveränderungen sein muß,

geht aus den Untersuchungen von Berblinger und Baniecki hervor. Diese Autoren konnten Veränderungen im Sinne der Schwangerschaftshypophyse durch Injektion von unspezifischen Mitteln (Pepton, Novoprotin) und spezifischen Hormonen (Follikelhormon) erreichen.

Nun die Strukturbilder, die ich im HVL meiner Versuchstiere vorfand. Es wurden Hypophysen von 4 Tiergruppen untersucht, die folgendermaßen vorbehandelt waren:

Gruppe I: 7 mg Cyren B und 1024 RE bezw. 32 RE Prolan
Gruppe II: 7 mg Cyren B
Gruppe III: 1024 RE bezw. 32 RE Prolan
Gruppe IV: unbehandelte Kontrolltiere.

Die Ratten waren gleichaltrig und hatten ein Durchschnittsgewicht von 55—58 gr.

Schon makroskopisch waren Größenunterschiede der Hypophysen der einzelnen Gruppen festzustellen.

Abb. 10

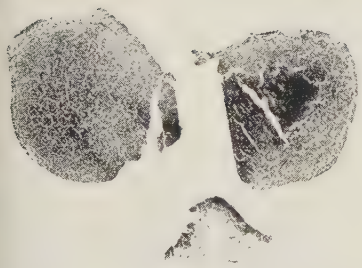
Hypophyse von Ratte Nr. 58 (Gruppe 4)

Abb. Nr. 10—13 stellen die histologischen Schnittbilder dar. Die Schnitte sind alle aus der Mitte der Hypophyse entnommen und bei gleicher Vergrößerung dargestellt. (1:15). Es zeigt sich auch hier, daß die Schnittflächen der mit Cyren B behandelten Hypophysen ungefähr doppelt so groß als die der Gruppe III und IV sind. Auffallend ist, daß

Abb. 11

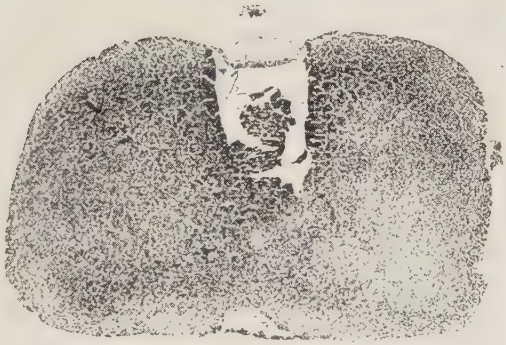
Hypophyse von Ratte Nr. 2 (Gruppe T)

Abb. 12



Hypophyse von Ratte Nr. 18
(Gruppe 3)

Abb. 13

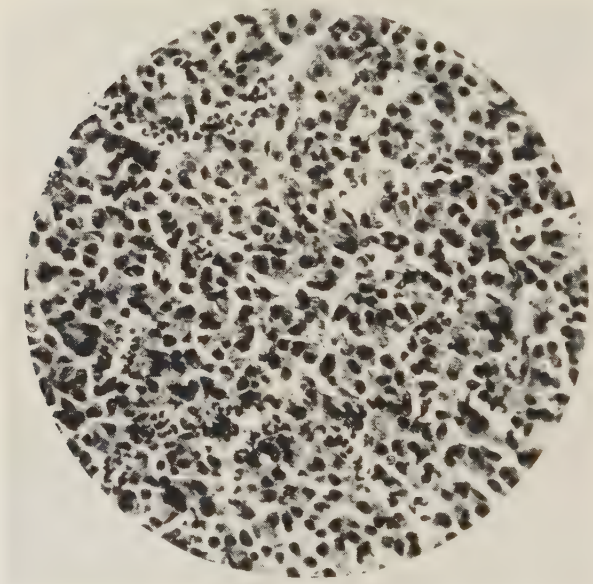


Hypophyse von Ratte Nr. 54
(Gruppe 2)

nur die Adenohypophyse an der Vergrößerung teilgenommen hat, nicht aber die Neurohypophyse. Letztere ist in allen Gruppen gleich groß. Ein Größenunterschied zwischen Gruppe III und IV konnte nicht festgestellt werden.

Auch in der Struktur des HVL ist ein deutlicher Unterschied festzustellen. Während die histologischen Bilder der Gruppe III und IV (kein Cyren B) denen der noch nicht ausgereiften Hypophysen juveniler Ratten gleichen, finden wir in den HVL der mit Cyren B behandelten Tiere

Abb. 14

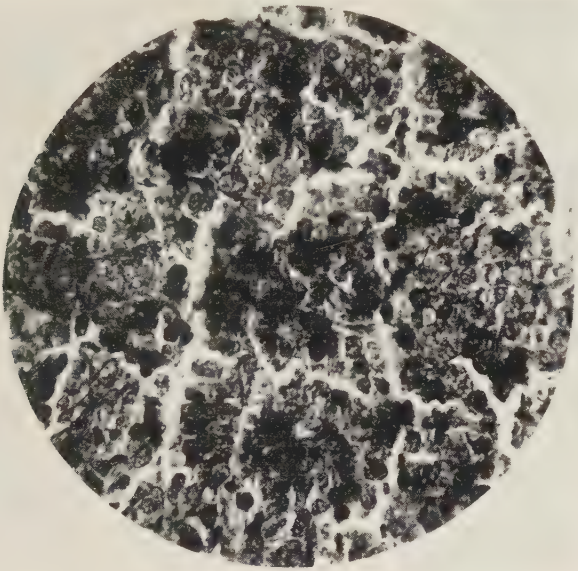


Ausschnitt aus Abb. 12

Strukturveränderungen, wie wir sie von der Schwangerschaftshypophyse her kennen. Beide Befunde sind in den Abbildungen 14 - 15 wiedergegeben. Degranulation der eosinophilen und basophilen Zellen mit einer Abnahme der Gesamtzahl und eine Zunahme in Größe und Menge der chromophoben Zelltypen sind der Erfolg der Cyrenbehandlung. Die Zellgrenzen der Hauptzellen sind unscharf, die Kerne äußerst chromatinarm. Durch die Prolanbehandlung konnten keine wesentliche Strukturveränderun-

gen am HVL hervorgerufen werden. Es konnte lediglich eine geringe Reifewirkung festgestellt werden. Das ist wohl dadurch erklärlich, daß die Aenderungen im morphologischen Bild der Hypophyse langsam vor sich gehen im Gegensatz zu den rasch einsetzenden morphologischen und funktionellen Veränderungen am Genitalapparat, die wir mit Prolan im Kurzversuch auslösen können.

Abb. 15



Ausschnitt aus Abb. 13

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß Cyren B eine Veränderung am HVL im Sinne der Schwangerschaftshypophyse hervorgerufen hat. Es wäre also möglich, die vorhandene Zellproliferation für die im ersten Teil der Untersuchungen festgestellte Prolanproduktion verantwortlich zu machen.

Bemerkenswert ist noch die Tatsache, daß durch Cyren B allein und Prolan allein eine wesentliche Gewichtssteigerung an den Ovarien nicht festzustellen war. Durch die Kombination beider Hormone fand ich jedoch außerordentliche Gewichtsanstiege, die man meiner Ansicht nach nicht lediglich als Summierung der Wirkungen auffassen kann.. Folgender Gedankengang soll zur Erklärung führen:

Bei dem in meinen Versuchen angewandten Prolan der I. G. Farbenindustrie handelt es sich um einen Schwangerenharn-Extrakt. Das gonadotrope Hormon des Schwangerenharns unterscheidet sich hinsichtlich Ovarbeeinflussung wesentlich vom Hypophysenhormon, indem es auf das Ovargewicht nur eine sehr begrenzte Wirkung hat (E v a n s u. S i m p s o n). Gleichgültig in welcher Dosis der Schwangerenharn injiziert wird, findet man stets ein Ovargewicht zwischen 30 bis 70 mg. Der Unterschied zwischen beiden Hormonen beruht wahrscheinlich auf den im Ovar stimulierten Follikel. Ausschlaggebend für diesen Unterschied soll nach Evans und Hisaw eine synergistisch wirkende Substanz (auch Zusatzhormon genannt) sein, die in der Hypophyse vorhanden sein, aber im Schwangerenharn fehlen soll. Setzt man nämlich den Harn an sich unwirksamen Mengen eines Drüsenextraktes zu, so erzielt man dieselben Wirkungen wie mit einem vollwirksamen Extrakt aus HVL (E v a n s) oder auch aus Stutenserum.

Auf Grund dieser Tatsache möchte ich die Steigerung des Prolaneffektes durch vorherige Anwendung von Cyren B wie folgt erklären:

Durch die Einwirkung des Cyrens auf den HVL wird diese zur Produktion des gonadotropen Hormons plus synergistischen Faktors angeregt. Die so behandelten Tiere zeigten in den Ovarien eine bescheidene Gelbkörperbildung, zu einer nennenswerten Gewichtssteigerung kam es nicht. Das jetzt injizierte Schwangerenharnprolan findet im Tierkörper den synergistischen Faktor vor und wirkt nun wie ein vollwirksamer Extrakt aus HVL oder aus Stutenserum. Es kommt also nicht wie nach Schwangerenprolan allein zu geringer Gewichtssteigerung und wenigen großen Corpora lutea, sondern zu hohen Gewichtssteigerungen und vielem Corpora lutea, ähnlich wie wir es nach Behandlung mit gonadotropen Hormon aus Stutenserum sehen.

Zusammenfassung

Auf Grund der angeführten Untersuchungen können folgende Ergebnisse festgestellt werden:

1. Es gelingt, mit einer für Ratten sehr hohen Dosis Cyren B (7 mg) und nachfolgend gegebenem Prolan bei den Versuchstieren eine eindeutige Steigerung des Prolaneffektes um 284—412 % (Ovargewichte) zu erzielen.

2. Auch mit kleineren Cyrendosen (0,7 bezw. 0,07 mg Cyren B) sowie Cyren B per os ist noch eine erhebliche Wirkungssteigerung des Prolaneffektes zu erreichen. (151—302 % bezw. 160—222 %).

3. Follikelreifung und vermehrte Gelbkörperbildung sind die im histologischen Bild erkennbaren Folgen der Kombination von Cyren B und Prolan.

4. Durch Cyren B wurden am HVL Veränderungen im Sinne der Schwangerschaftshypophyse hervorgerufen.

LITERATUR

Clauberg: Die weibl. Sexualhormone 1933.

Hohlweg: Klin. Wchschr. 1934, Nr. 3, 92.

" " 1936, 1832.

Magart u. Rosenfeld: Klin. Wschr. 1933, 1288.

Klaften: Z. Geburth. 115, 64 (1937).

Steinach, Heinlein u. Wiesner: Pflügers Arch. 210, 598 (1925).

Dodds Golberg, Lawson u. Robinson: Nature 1938, Nr. 3562, B. 141.

B. Zondek: Hormone des Ovariums u. des Hypophysenvorderlapp. 1935.

Moore u. Price: Amerik. I. Anat. 50, 45 (1932).

Engle u. Smith: Amer. I. Obstetr. 29, 787 (1935).

Mayer, Leonard, Hisaw: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. (Am 28, 714, 1931).

Fewold, Hisaw: Amer. I. Physiol. 97, 291 (1934) und 109, 655 (1934).

Wolfe u. Cleveland: Anat. Proc. amerik. 51, 409, (1932) und 55, 233, (1933).

Erdheim u. Stumme: Beitr. path. Anat. 46 (1909).

Berblinger: Verh. dt. Path. Ges. München 1914.

Banjecki: Arch. gynäk. 134, 633 (1928).

Bomskov: Meth. der Hormonforschung, Bd. I u. II, 1937/39.

Evans u. Simpson: I. of exper. Med. 58, 545—559 u. 561—568 (1933).

LEBENSLAUF

Am 11. Januar 1914 wurde ich zu Kelsterbach a. M. geboren. Nach 4jähriger Volksschulzeit besuchte ich 9 Jahre die Oberrealschule zu Mainz. Das medizinische Studium begann ich im Wintersemester 1933/34 an der Universität Würzburg. Nach Fortsetzung der Studien in Gießen, Frankfurt a. M. und Köln legte ich am 12. April 1939 die ärztliche Prüfung zu Frankfurt a. M. ab.

Seit dem 12. Mai 1939 bin ich als Medizinalpraktikant in der Univ.-Frauenklinik zu Frankfurt a. M. tätig. Die Bestallung als Arzt erhielt ich am 1. September 1939.

Für die Ueberlassung des Themas sowie für die freundlichen Hinweise und Ratschläge möchte ich an dieser Stelle Herrn Dozent Dr. F. Stähler, Oberarzt der Univ.-Frauenklinik Frankfurt a. M., meinen besonderen Dank aussprechen.